

**SKRIPSI**

**PENGARUH PERBEDAAN SELANG WAKTU PEMBERIAN  
EKSTRAK DAUN API-API TERHADAP GAMBARAN  
HISTOLOGI TESTIS MENCIT**



**OLEH :**

*Rr. Februana Christsetiani*

**BOJONEGORO - JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**SURABAYA**

**1995**

**PENGARUH PERBEDAAN SELANG WAKTU PEMBERIAN  
EKSTRAK DAUN API-API TERHADAP  
GAMBARAN HISTOLOGI  
TESTIS MENCIT**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

RR. FEBRUANA CHRISTSETIANI  
BOJONEGORO – JAWA TIMUR

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing



Dr. Hardijanto, M.S., Drh  
Pembimbing I



Didik Handijatno, M.S., Drh  
Pembimbing II

Setelah mempelajari dan mengkaji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Mengetahui  
Panitia Penguji,



Ajiek Azmijah, S.U., drh

Ketua



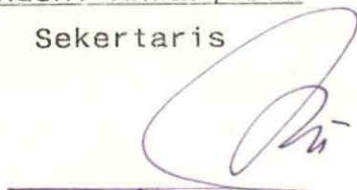
Husni Anwar, Drh

Sekretaris



Rudy Sukanto S., M.Sc., Drh

Anggota



Dr. Hardijanto, M.S., Drh

Anggota



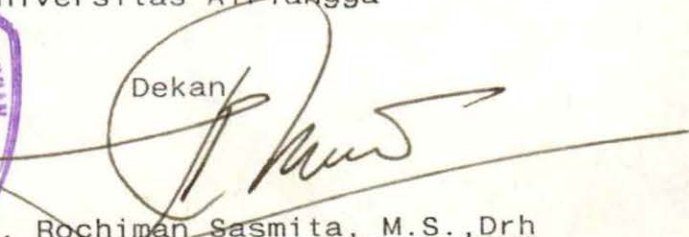
Didik Handijatno, M.S., Drh

Anggota

Surabaya, 1 Juli 1995  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga



Dekan



Prof. Dr. H. Rochiman Sasmita, M.S., Drh

PENGARUH PERBEDAAN SELANG WAKTU PEMBERIAN  
EKSTRAK DAUN API-API TERHADAP  
GAMBARAN HISTOLOGI  
TESTIS MENCIT

Rr. Februana Christsetiani

INTISARI

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun tumbuhan Api-api dengan selang waktu tertentu terhadap gambaran histologi testis mencit.

Dalam penelitian ini digunakan 25 ekor mencit jantan varietas Albino Jerman yang berumur 10 minggu dalam keadaan sehat, dengan berat badan antara 25-30 g. Mencit dipelihara dalam kandang berdasarkan kelompok perlakuan dan diberi pakan untuk DOC dan minum secara tak terbatas. Desain penelitian ini memakai Rancangan Acak Lengkap ( RAL ) yang terbagi menjadi lima kelompok perlakuan, masing - masing beranggotakan lima ekor mencit. Data dianalisa menggunakan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil ( BNT ).

Ekstrak daun tumbuhan Api-api diberikan secara per oral menggunakan sonde. Dosis yang dipakai tiap kali perlakuan adalah 0,3 g/kg berat badan. Kelompok P0 sebagai kelompok kontrol, kelompok P1 pemberian ekstrak daun Api-api sembilan hari sekali, P2 setiap enam hari sekali, P3 setiap tiga hari sekali, dan P4 setiap hari.

Setelah 36 hari perlakuan, setiap mencit tersebut diambil testisnya dan dibuat preparat histologi. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa, masing-masing enam tubulus seminiferus dari tiga irisan testis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa. Dan pada pemberian sembilan hari sekali dinilai sudah mampu menurunkan jumlah sel - sel kelamin tersebut.

## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat dan rahmatNya, maka penulisan hasil penelitian ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini, dengan penuh rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Hardijanto, M.S., Drh selaku dosen pembimbing pertama.
2. Drh. Didik Handijatno, M.S. selaku dosen pembimbing kedua.
3. Dr. Gde Astika, M.S., Drs. yang telah banyak memberikan informasi dan bantuan.
4. Ayah, Ibu, seluruh anggota keluarga dan rekan - rekan yang telah memberikan dorongan dan dukungan doa.

Harapan penulis, semoga hasil tulisan ini berguna bagi yang memerlukan. Akhirnya penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu tidak menutup diri terhadap kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan penulisan selanjutnya.

Surabaya, Juni 1995

Penulis,

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang Permasalahan .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan .....	4
1.4. Hipotesis .....	4
1.5. Manfaat .....	4
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1. Tumbuhan Api-Api .....	5
2.1.1. Morfologi Tumbuhan Api-Api .....	5
2.1.2. Manfaat Api-Api Dalam Kehidupan Sehari-hari .....	7
2.1.3. Zat-Zat Yang Terkandung Dalam Tumbuhan Api-Api .....	9
2.1.4. Mekanisme Fisiologi Kandungan Tumbuhan Api-Api sebagai Bahan Antifertilitas Hewan Jantan .....	10
2.2. Reproduksi Hewan Jantan .....	12
2.2.1. Anatomi dan Fisiologi Alat Kelamin Jantan .....	12
2.2.2. Spermatogenesis .....	16

BAB III : MATERI DAN METODOLOGI PENELITIAN .....	19
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	19
3.2. Materi Penelitian .....	19
3.3. Metodologi Penelitian .....	20
BAB IV : HASIL PENELITIAN .....	23
BAB V : PEMBAHASAN .....	31
BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
RINGKASAN .....	41
DAFTAR PUSTAKA .....	43
LAMPIRAN .....	46

BAB III : MATERI DAN METODOLOGI PENELITIAN .....	19
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	19
3.2. Materi Penelitian .....	19
3.3. Metodologi Penelitian .....	20
BAB IV : HASIL PENELITIAN .....	23
BAB V : PEMBAHASAN .....	31
BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
RINGKASAN .....	40
DAFTAR PUSTAKA .....	42
LAMPIRAN .....	45



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jumlah Rata-rata Sel Spermatogonia pada Tubulus Seminiferus Mencit Perlakuan ....	23
2. Jumlah Rata-rata Sel Spermatisit I pada Tubulus Seminiferus Mencit Perlakuan ....	24
3. Jumlah Rata-rata Sel Spermatogonia pada Tubulus Seminiferus Mencit Perlakuan ....	25
4. Rata-rata Berat Testis Setelah Perlakuan .....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan Api-Api .....	6
2. Sel-Sel Kelamin Jantan pada Irisan Melintang Testis Mencit, pewarnaan HE, pembesaran 450 x .....	27
3. Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok P0, pewarnaan HE, pembesaran 100 x .....	27
4. Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok P1, pewarnaan HE, pembesaran 100 x .....	28
5. Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok P2, pewarnaan HE, pembesaran 100 x .....	28
6. Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok P3, pewarnaan HE, pembesaran 100 x .....	29
7. Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok P4, pewarnaan HE, pembesaran 100 x .....	29
8. Grafik Jumlah Sel Spermatogonia, Sel Spermatisit I, dan Sel Spermatozoa pada Tubulus Seminiferus Mencit Perlakuan .....	30
9. Skema Mekanisme Kerja Lupeol .....	35
10. Skema Mekanisme Kerja Triterpena dan Lupeol .....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatogonia pada Tubulus Seminiferus Testis Mencit .....	46
2. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatoosit I pada Tubulus Seminiferus Testis Mencit .....	49
3. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatozoa pada Tubulus Seminiferus Testis Mencit .....	52
4. Evaluasi Statistik Berat Testis Mencit Kelompok Perlakuan .....	55
5. Pembuatan Ekstrak Daun Api-Api .....	57
6. Pembuatan Sediaan Histologi Testis .....	59

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang Permasalahan.

Usaha untuk meningkatkan kuantitas maupun kualitas ternak mutlak diperlukan adanya perbaikan mutu genetik, yaitu melalui penyediaan dan penyebaran bibit unggul, terutama pejantannya.<sup>4</sup> Ternak jenis unggul dapat diperoleh dengan berbagai cara yaitu dengan metode kawin suntik dan melalui seleksi yang ketat pada pejantan. Metode kawin suntik sudah mulai memasyarakat, baik di kalangan peternak kecil atau besar. Metode ini perlu ditingkatkan terus dengan meningkatkan ketrampilan inseminator, kemampuan peternak mendeteksi birahi dan ketepatannya dalam penyampaian laporan sebagai penentu keberhasilan.

Perbaikan kualitas dari ternak dapat juga dicapai dengan melakukan seleksi pada ternak jantan yang tidak unggul, kemudian melakukan kastrasi, menghambat sekresi hormon-hormon reproduksi, dan menghambat proses spermatogenesis, yang bertujuan mencegah terjadinya reproduksi. Dengan demikian, ternak jantan umumnya tidak lagi mempunyai kemampuan untuk membuahi ternak betina, sehingga pada generasi berikutnya tidak lagi ditemui munculnya keturunan ternak yang tidak unggul.

Selain itu diharapkan terjadi peningkatan berat badan pada ternak karena ada penambahan timbunan lemak, protein, dan air akibat berkurangnya aktivitas pejantan (Budiyatno dan Zailani, 1977, Partodiharjo, 1982). Timbunan lemak yang menyusup ke dalam daging akan meningkatkan kualitas daging (Hardijanto dkk, 1991). Mencegah terjadinya reproduksi juga merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas daging yang lebih baik daripada hewan yang tidak dikastrasi (Kimball, 1988).

Untuk mencapai tujuan tersebut, timbul pemikiran untuk memanfaatkan bagian dari tumbuhan Api-api. Telah diketahui bahwa ekstrak tumbuhan Api-api mampu menghambat perkembangan sel telur pada wanita maupun hewan betina untuk tujuan sterilisasi dan pengendalian kelahiran (Heyne, 1978; Gde, 1989; Sastrowardoyo, 1991). Selain itu tumbuhan Api-api juga mampu menghambat proses spermatogenesis pada mencit jantan yang berarti pula bahwa tumbuhan Api-api dapat dipakai untuk sterilitas pada hewan jantan (Setyabudi, 1991). Dan bahan ini tidak menimbulkan efek samping yang merugikan bila digunakan pada dosis yang tepat (Parry, 1980; Sastrowardoyo, 1991; Soedarso, 1991; Soeparto, dkk 1991).

Pemakaian tumbuhan Api-api sebagai bahan anti-fertilitas yang pernah dilakukan pada mencit jantan adalah dengan cara per oral. Dosis yang diberikan adalah 0,1-1 g/kg berat badan, sedang dosis optimum yang diperoleh adalah 0,3 g/kg berat badan yang diberikan selama 42 hari. Jika pemberian dilakukan secara per oral dengan sonde selama 42 hari berturut-turut selain kurang efisien, dikuatirkan akan menimbulkan stres pada ternak, sehingga terjadi hal-hal yang tidak diinginkan dan ternak yang tidak unggul akan semakin jelek mutunya. Karena itu timbul pemikiran untuk memberikan ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu dengan harapan akan mengurangi stres pada ternak.

### 1.2. Perumusan Masalah

Dari landasan pemikiran tersebut di atas timbul permasalahan :

Apakah benar ekstrak daun api-api yang diberikan secara per oral dengan selang waktu tertentu mampu menghambat proses spermatogenesis sehingga mempengaruhi gambaran histologi testis mencit ?

### 1.3. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah :

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun api-api secara per oral dengan selang waktu tertentu terhadap gambaran histologi testis mencit.

### 1.4. Hipotesis

Pada penelitian ini dikemukakan hipotesis bahwa :

Ada pengaruh pemberian ekstrak daun Api-api secara per oral dengan selang waktu tertentu terhadap gambaran histologi testis mencit.

### 1.5. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat membantu peternak untuk mengadakan seleksi dan mencegah terjadinya reproduksi ternak yang tidak unggul dengan menggunakan ekstrak daun Api-api. Pemakaian ekstrak daun Api-api sangat diharapkan karena tidak berakibat samping yang merugikan pada dosis yang tepat sehingga program pemerintah dalam meningkatkan kualitas ternak dapat tercapai.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

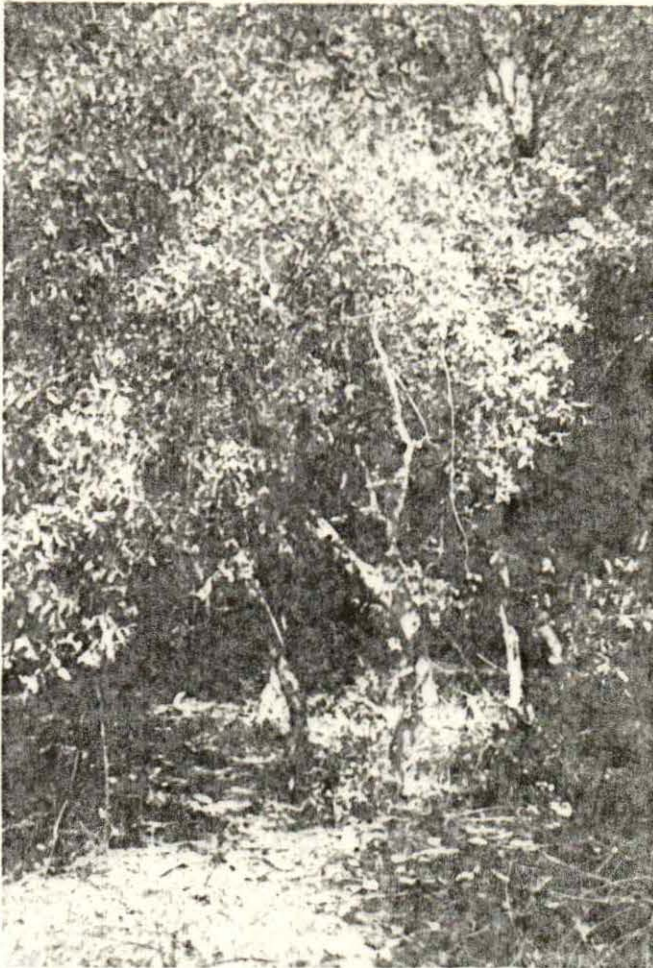
#### 2.1. Tumbuhan Api-api

##### 2.1.1. Morfologi Tumbuhan Api-api

Api-api termasuk divisio *Spermatophyta*; sub divisio *Angiospermae*; class *Dycotyledonae*; familia *Verbanaceae*; species *Avicennia marina* dan *Avicennia officinalis linn* (Steenis, 1992). Di Indonesia dikenal dengan nama Api-api.

Tumbuhan Api-api adalah salah satu tumbuhan bakau. Indonesia sebagai suatu negara kepulauan mempunyai hutan bakau seluas 2.500 ha. Tumbuhan Api-api adalah salah satu pendukung hutan bakau tersebut. Tumbuhan dari hutan pasang ini mempunyai akar napas yang tumbuh lurus ke atas, tingginya dapat mencapai lebih dari 14 m bahkan kadang - kadang mencapai 23 m, dengan kayunya keras dan agak berat. Bagian kayu tumbuhan ini berwarna abu - abu pucat dan terasnya berwarna coklat kehijauan sampai lembayung (Steenis, 1992).





Gambar 1: Tumbuhan Api-Api

Daun tumbuhan Api-Api berbentuk ellipsis, jorong, bulat telur terbalik, berujung tumpul dan pangkalnya berbentuk baji. Permukaan daunnya rata serupa belulang, sisi atas mengkilat dan sisi bawah berwarna hijau pucat. Bunga berwarna kuning dengan penampang 0,5 cm. Kelopak bunganya hijau pucat, pendek dan terbagi 5-6 bagian. Tabung mahkota bunganya lebar berbentuk silinder dan sisi dalam tidak berambut. Benang sari berjumlah empat buah, tangkai sari...

pendek dan berwarna kuning. Tangkai putik berambut dan kepalanya putih melengkung (Steenis, 1992). Buahnya bergantung dua sampai empat bersama - sama, gepeng, miring dengan puncak kecil, diselubungi selaput hijau kelabu seperti wol (Heyne, 1988).

### 2.1.2. Manfaat Api-api Dalam Kehidupan Sehari-hari

Tumbuhan Api-api mempunyai banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari, terutama bagi penduduk di sekitar hutan bakau itu. Selain berfungsi sebagai pencegah terjadinya pengikisan pantai oleh air laut, bagian - bagian dari tumbuhan ini masing - masing masih mempunyai manfaat tersendiri. Para nelayan sering memakai kayu tumbuhan Api-api sebagai kayu bakar untuk mengasapi ikan karena dapat memberikan bau yang sedap, atau sering pula dipakai untuk membuat alat penumbuk padi. Bila bijinya dibersihkan dari kulitnya, direndam semalam dan direbus, dapat dimakan sebagai pengganti nasi (Heyne, 1988). Menurut Burkill (1935) yang dikutip oleh Gde (1989), daun tumbuhan Api-api kebanyakan dimanfaatkan sebagai bahan pakan ternak di daerah pantai. Sedangkan getah yang keluar dari kulit batang tumbuhan ini sering dipakai sebagai obat sakit gigi. Rasanya pahit dan berbau khas.

Getah kulit oleh sebagian wanita juga digunakan untuk obat mencegah kehamilan. Penggunaan getah tumbuhan Api-api dengan dosis 200-300 mg yang diminum sekali sebulan sekali sebulan mempengaruhi kehamilan, pola haid, dan menurunkan produksi hormon GnRH (Suparto, dkk 1991). Cara pemakaian getah ini tidak sama di beberapa daerah. Di Jawa Barat dimakan bersama buah pisang (Heyne, 1988). Di Madura, pemakaiannya dengan cara diminum secara teratur menjelang haid. Di Malaysia dimakan bersama buah nenas (Gde, 1989). Penggunaan ini umumnya sudah lama dilakukan dan tidak menimbulkan efek samping yang merugikan (Perry, 1980). Pendapat ini didukung oleh Soedarso (1991) setelah melakukan uji analisa urin, uji hematologi dan histopatologi hati setelah penggunaan api-api pada mencit betina, menunjukkan tidak adanya perbedaan pada uji-uji tersebut.

Menurut Sastrowardoyo (1991), getah tumbuhan Api-api kurang menimbulkan toksisitas akut, tetapi pemakaian jangka panjang dapat menyebabkan degenerasi hati dan ginjal. Pada pemakaian dengan dosis yang besar dapat menimbulkan efek teratogenik dan embriotoksik.

Penggunaan getah tumbuhan Api-api mengakibatkan sebagian kecil peserta keluarga berencana yang mengeluh pusing, gatal, sakit perut dan darah putih. Pemberian

getah daun Api-api juga mempengaruhi pertambahan berat badan sebagian besar wanita peserta Keluarga Berencana (Suparto, dkk 1991).

Ekstrak buah Api-api juga dipakai untuk menghambat proses spermatogenesis mencit jantan dengan dosis 0,1-1 g/kg berat badan yang diberikan selama 42 hari (Setyabudi dan Soehadi, 1991)

### 2.1.3. Zat-zat yang Terkandung Dalam

#### Tumbuhan Api-api

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi yang telah dilakukan, kandungan aktif kulit batang Api-api adalah suatu glikosida yang sapogeninnya identik dengan triterpena asam golongan amirin dan gugus gulanya identik dengan asam uronat. Kandungan aktif tersebut berkhasiat sebagai anti fertilitas pada mencit betina. Tumbuhan Api-api juga mengandung lupeol, betulinaldehida, betulin dan asam betulinat merupakan informasi tambahan tentang kandungan kulit batang tersebut (Gde, 1989).

Di dalam tumbuhan Api-api, senyawa titerpena terdapat pada buah, daun, kulit batang, dan di dalam getahnya (Harborne, 1973).

Senyawa titerpena merupakan senyawa yang mempunyai rantai karbon berupa enam unit isoprena dan merupakan

hasil biosintesis hidrokarbon squalena. Senyawa-senyawa itu mempunyai struktur siklik yang relatif kompleks dan sebagian besar merupakan senyawa alkohol, aldehid atau asam karboksilat (Harborne, 1973)

Senyawa - senyawa triterpena dapat menghentikan pembelahan sel telur dan menghambat perkembangan fase blastosis dari landak laut (Das dan Sashi, 1983).

Dalam tumbuhan Api-api, selain sebagai senyawa bebas triterpena dapat pula sebagai senyawa yang terikat yaitu sebagai saponin. Dalam hal ini kebanyakan triterpena berupa senyawa triterpena pentasiklik yang mengikat unit gula atau asam uronat (Santos et al., 1978)

Lupeol, betulin dan betulinaldehid merupakan hasil reaksi urutan biogenesis asam betulinat (Gde, 1989).

#### 2.1.4. Mekanisme Fisiologi Kandungan Api-api sebagai Antifertilitas pada Ternak Jantan

Di dalam tubuh, glikosida triterpena yang merupakan kandungan bahan aktif tumbuhan api-api yang terbanyak mempunyai mekanisme kerja yang berpijak pada kemampuannya berinteraksi terutama dengan sterol membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol yang terdapat dalam membran sel (Anisimov et al., 1978).

Adanya ikatan kompleks triterpena dengan senyawa kolesterol dalam membran sel menyebabkan terjadinya perubahan perbandingan kolesterol dan fosfolipid dengan cairan membran sel (Korolkovas et al., 1976). Perbedaan perbandingan tersebut akan mengakibatkan kelainan - kelainan fungsi sel (Anisimov et al., 1976).

Pada pemakaian Api-api sebagai bahan antifertilitas akan mengakibatkan perubahan permeabilitas membran, sehingga akan mengakibatkan kelainan - kelainan fungsi sel, termasuk juga dalam proses replikasi *DNA* dan *RNA* sebagai pembawa sifat keturunan, yaitu pada saat terjadi pembelahan sel kelamin secara miosis. Akibatnya spermatid tidak terbentuk sempurna, sehingga terjadi kegagalan dalam proses pembentukan spermatozoa. Dan akhirnya menurunkan kemampuan sperma membuahi *ovum*.

Menurut Da Rocha et al. (1933) yang dikutip oleh Gde (1989), lupeol yang juga terkandung dalam tumbuhan Api-api bekerja dengan cara menekan susunan saraf pusat mencit dan tikus. Dengan demikian adanya lupeol dalam tumbuhan Api-api dapat mengakibatkan terjadinya depresi pada susunan saraf pusat yang mengakibatkan gangguan pada hipotalamus, sehingga sekresi hormon yang dihasilkan oleh hipofisa anterior juga mengalami gangguan (Fransworth et al., 1975). Terganggunya fungsi

hipofisa anterior akan mengakibatkan gangguan sekresi *Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH)* yang berperan sebagai hormon pengatur sistem reproduksi pada hewan jantan maupun betina, yaitu *Follicle Stimulating Hormon (FSH)* dan *Interstitial Cell Stimulating Hormon (ICSH)*. Sebagai akibatnya akan terjadi penurunan aktivitas testis, yaitu tidak terbentuknya sel *leydig* sebagai penghasil testosteron. Kemudian diikuti dengan penurunan libido dan proses spermatogenesis terhambat diikuti dengan penghentian produksi sel spermatozoa.

## 2.2. Reproduksi Jantan

### 2.2.1. Anatomi dan Fisiologi Alat Kelamin Jantan

Organ reproduksi pada hewan jantan terbagi menjadi empat bagian besar, tetapi umumnya mempunyai bentuk yang hampir sama. Beberapa organ reproduksi jantan yang penting diantaranya terdiri dari sepasang testis, sepasang epididimis, vas deferens, kelenjar aksesoris, uretra dan penis. Fungsi fisiologis alat kelamin jantan dibagi menjadi alat kelamin primer dan alat kelamin sekunder. Testis adalah alat kelamin primer yang berfungsi untuk memproduksi sel spermatozoa dan hormon *androgen* yang berpengaruh pada fungsi reproduksi dan perilaku hewan (Partodiharjo, 1982).

Testis terdiri dari beberapa bagian yaitu *tubulus seminiferus*, *tenunan pengikat* dan *sel interstitial* atau *sel leydig*. *Tenunan pengikat* mengandung pembuluh darah, pembuluh limfe, sel-sel syaraf dan sel-sel makropag. Di dalam *tubulus seminiferus* terdapat dua macam sel yang berbeda yaitu *sel sertoli* dan *sel germinatif*. *Sel sertoli* berfungsi memberi makan sel spermatozoa dan mempunyai kemampuan untuk memakan sel spermatozoa yang telah mati. *Sel germinatif* yang masih muda disebut *sel spermatogonia* yang akan mengalami proses spermatogenesis. Sedangkan *sel leydig* sebagai penghasil hormon *testosteron* (Hardjopranjoto, 1981).

Fungsi testis diatur oleh hormon *gonadotropin* yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior. Terdapat dua macam hormon *gonadotropin* yaitu *Folicle Stimulating Hormon (FSH)* dan *Interstitial Cell Stimulating Hormon (ICSH)*. *Folicle Stimulating Hormon* akan merangsang pertumbuhan sel - sel *epitel germinatif* dari *tubulus seminiferus* dan mendorong proses spermatogenesis. *Interstitial Cell Stimulating Hormon (ICSH)* akan merangsang pertumbuhan *sel leydig* untuk memproduksi hormon *testosteron* (Hardjopranjoto, 1981).

Semasa embrional, testis dibentuk dekat ginjal, kemudian di dalam perkembangan selanjutnya testis bersama penggantungnya dengan perlahan akan turun



menuju kantung scrotum melalui *kanalis inguinalis* yang disebut *descensus testicularum* (Purnomo, 1990).

Testis pada kebanyakan mamalia berada di dalam skrotum. Pada golongan rodensia, testis dapat dengan mudah berpindah-pindah dari dalam perut ke kantong skrotum. Hal ini terjadi pada musim kawin, sedang di luar musim kawin testis berada dalam rongga perut. Kantung skrotum berfungsi melindungi testis dari gangguan luar berupa pukulan, panas, dan dingin (Partodihardjo, 1982; Purnomo, 1990).

Kantung skrotum terdiri dari beberapa lapisan, dari luar ke dalam berturut - turut sebagai berikut, lapisan pertama adalah kulit yang diliputi oleh bulu - bulu dan kelenjar keringat di dalamnya. Lapisan kedua adalah *tunika dartos* yang terletak sangat rapat dengan kulit, dan berperan penting dalam mempertahankan suhu testis. Lapisan ketiga adalah *tunika vaginalis* yang mempunyai pelebaran sampai ke peritonium dari rongga perut. Sedangkan lapisan yang paling dalam adalah *tunika albugenia* atau lapisan tipis yang sering menempel pada dinding luar testis dan merupakan bagian dari testis (Hardijanto dan Hardjoprano, 1994).

Alat kelamin sekunder hewan jantan terdiri dari *vas deferens*, kelenjar aksesoris, uretra dan penis. Epididimis merupakan saluran berkelok - kelok dan

berhubungan dengan testis melalui *vas eferen*. *Vas deferen* saluran penerus epididimis yang akan meninggalkan skrotum menuju ke rongga perut melalui *canalis inguinalis*. Di dalam rongga perut *vas deferen* bergabung dengan uretra yang kemudian berakhir pada penis. Terdapat tiga kelenjar asesoris yaitu, *kelenjar vesikula seminalis*, *kelenjar prostata*, dan *kelenjar bulbouretralis*. Kelenjar - kelenjar ini untuk setiap hewan mempunyai ukuran yang berbeda - beda. Cairan yang dihasilkan merupakan bagian terbesar dari cairan air mani dan banyak mengandung karbohidrat, protein, asam - asam amino, enzim - enzim, vitamin - vitamin yang larut dalam air, mineral - mineral, asam sitrat, dan bahan - bahan organik penting yang lain. Cairan asesoris mempunyai daya buffer yang tinggi, sehingga sel spermatozoa yang ada dalam air mani mempunyai daya hidup yang cukup dan tahan lama (Purnomo, 1990).

Uretra yang membentang dari kelenjar ampul hingga ujung penis, selain berhubungan dengan *vas deferen* juga berhubungan dengan kandung kemih. Selain bermanfaat untuk menyalurkan produk urin, juga berfungsi sebagai alat transportasi air mani dari kelenjar ampulla dan kelenjar asesoris sampai ditumpahkan di dalam alat kelamin betina pada saat kopulasi.

Penis terletak di depan anus dan bagian yang paling peka adalah bagian kepala yang disebut *gland penis*. Pada saat tidak ereksi, bagian kepala tertutup kulit atau *preputium*, tetapi bila sedang ereksi *preputium* tertarik ke belakang (Dhami, 1982)

### 2.2.2. Spermatogenesis

Spermatogenesis adalah suatu proses diferensiasi sel kelamin jantan yang kompleks meliputi pembelahan mitosis dan meiosis (Johnson dan Everitt, 1988).

Sel-sel spermatozoa dibuat pada *tubulus seminiferus*. Sel spermatozoa berkembang dari sel spermatogonia dari *epitel germinativum tubulus seminiferus* yang berkembang dengan jalan pembelahan. Menurut Purnomo (1990), proses spermatogenesis pada hewan mamalia dibagi menjadi empat tahap, yaitu tahap proliferasi, tahap pertumbuhan, tahap pematangan, dan tahap transformasi.

Tahap proliferasi terjadi sebelum lahir sampai beberapa waktu setelah lahir. Bakal sel kelamin yang terletak pada membran basal dari *tubulus seminiferus* ini relatif kecil, kromatinnya tidak teratur dan membentuk kelompok-kelompok kasar. Sel ini mengalami mitosis berurutan dan terbentuk dua macam sel spermatogonia, yaitu spermatogonia A dan B. Spermatogonia A

membelah secara perlahan dan berfungsi sebagai induk spermatogonia. Spermatogonia B dapat membelah dan tumbuh menjadi besar (Johnson and Everitt, 1988).

Saat tahap pertumbuhan, spermatogonia membelah diri secara *mitosis* menjadi spermatisit primer. Spermatisit primer ditandai dengan adanya kromosom dalam inti. Spermatisit primer biasanya lebih besar dari sel-sel yang lain dalam tubulus seminiferus dan tidak bersentuhan dengan membran basal tubulus seminiferus. Mereka membelah, kromosomnya menjadi *tetraploid* dan tergulung dalam inti (Craigmyle, 1987).

Tahap pematangan merupakan tahap pembelahan miosis sehingga sel spermatisit primer menjadi empat sel spermatisit sekunder, jumlah akrosomnya menjadi setengahnya (*diploid*). Sel ini sukar ditemukan dalam potongan testis karena interfasesnya sangat cepat dan masuk meiosis kedua menjadi spermatid. Spermatid lebih kecil daripada spermatogonia dan spermatisit primer, kromosomnya setengah dari jumlah semula (*haploid*). Spermatid terletak dekat bagian tengah tubulus seminiferus (Johnson and Everitt, 1988).

Tahap transformasi terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid terbentuk sel spermatozoa. Inti sperematid menjadi kepala spermtozoa, badan golgi membentuk tudung anterior, bila sudah terbentuk

vakuola, badan golgi akan berpindah ke leher. Plasma membran menjadi selubung tubuh spermatozoa. Mitokondria menuju ke depan ekor spermatozoa, membentuk spiral yang disebut selaput mitokondria ( Purnomo,1990).

Setelah beberapa waktu sel - sel spermatozoa yang terbentuk ini akan bergabung dengan sel sertoli yang berfungsi sebagai sel pengasuh. Sel spermatozoa kemudian dialirkan oleh tekanan dari tubulus seminiferus menuju epididimis. Di dalam epididimis spermatozoa mengalami pendewasaan dan disimpan sampai diejakulasikan.

### BAB III

## HATERI DAN METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 26 Desember 1994 sampai tanggal 10 Februari 1995 di kandang hewan percobaan Jurusan Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

### 3.2. Materi Penelitian

#### 3.2.1. Hewan Percobaan

Dalam penelitian ini digunakan 25 ekor mencit jantan varietas Albino Jerman yang berumur 10 minggu dalam keadaan sehat, dengan berat badan antara 25-30 g. Mencit dipelihara dalam kandang berdasarkan kelompok perlakuan dan diberi pakan Par II (pakan untuk DOC) dan minum secara tak terbatas.

#### 3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : Daun Api-api dan metanol 95 % untuk pembuatan ekstrak daun api-api, alkohol 70 % untuk sterilisasi alat dan skrotum, aquades steril,

kapas. Bahan - bahan untuk pembuatan preparat histologi yaitu formalin 10 %, buffer formalin, alkohol 70 %, 80 %, 95 %, 96 %, alkohol absolut I, II, xylol I dan II, pewarnaan HE ( Hematoxylin Eosin ) , parafin, canada balsam.

### 3.2.3. Alat Penelitian

Alat yang digunakan terdiri dari alat-alat pembuatan ekstrak daun api-api yaitu open pengering , alat penggiling buatan Arthur M. Thomas, ayakan nomor 20, perkolator dan rotavapor. Cara pembuatan ekstrak daun Api-api dapat dilihat pada lampiran 5. Untuk pemberian obat per oral digunakan alat suntik yang dilengkapi dengan sonde. Sedang alat untuk pengambilan testis dilakukan melalui prosedur bedah. Untuk pembuatan preparat histologi digunakan serangkaian alat yang terdiri dari alat dehidrasi, mikrotom, hot plate, objek dan cover glass, mikroskop. Prosedur pembuatan preparat histologi dapat dilihat pada lampiran 6.

## 3.3. Metodologi Penelitian

### 3.3.1. Persiapan Hewan Percobaan

Setelah diperiksa kesehatannya secara klinis, mencit ditempatkan dalam kandang berdasar kelompok perlakuan. Mencit dipelihara selama satu minggu sebelum

mendapat perlakuan dengan harapan mencit tersebut dapat beradaptasi dengan lingkungan dan pakannya yang baru.

### 3.3.3. Perlakuan Hewan Percobaan

Dua puluh lima ekor mencit dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing beranggotakan 5 ekor mencit. Lima perlakuan itu adalah:

Kelompok P0 : Sebagai kelompok kontrol.

Kelompok P1 : Perlakuan ekstrak daun api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, sembilan hari sekali.

Kelompok P2 : Perlakuan ekstrak daun api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, enam hari sekali.

Kelompok P3 : Perlakuan ekstrak daun Api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, tiga hari sekali.

Kelompok P4 : Perlakuan ekstrak daun api-api dosis 0,3 g/kg berat badan, satu hari sekali.

Sebelum diberi perlakuan mencit ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan dosis ekstrak daun Api-api yang diberikan dalam bentuk suspensi. Pemberian dilakukan dengan alat suntik yang dilengkapi dengan sonde sesuai perlakuan selama 36 hari. Kemudian dilakukan



pembedahan testis. Sebelum dibuat preparat testis ditimbang terlebih dahulu.

### 3.3.5. Pemeriksaan Mikroskopis

Setelah sediaan dibuat, dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 450x. Perhitungan dilakukan pada tiga potongan testis yang berbeda untuk setiap ulangan pada masing - masing perlakuan. Tiap potongan dilakukan pengamatan pada dua tubulus seminiferus yang besarnya lebih kurang sama. Hasilnya diambil rata-rata jumlah masing-masing perhitungan. Perhitungan ini merupakan modifikasi dari prosedur yang digunakan oleh Tedja (1993).

Parameter yang diamati adalah jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa.

### 3.3.6. Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Hasil dari perhitungan pada gambaran histologi testis mencit dicatat dalam lembar data dan disajikan dalam bentuk tabel. Kemudian dilakukan analisa menggunakan Rancangan Acak Lengkap ( RAL ) dan uji statistik yang dipakai adalah uji F. Bila terdapat perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji BNT ( Beda Nyata Terkecil ) untuk mengetahui perlakuan yang terbaik ( Kusriningrum, 1989 ).

**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN**

Dari hasil penelitian tentang selang waktu pemberian ekstrak daun Api-api terhadap gambaran histologi mencit jantan diperoleh hasil seperti yang tercantum pada tabel 1, 2, dan 3.

Tabel 1. Jumlah rata-rata sel spermatogonia pada tubulus seminiferus mencit perlakuan

Perlakuan	Jumlah sel spermatogonia ( $\bar{x} \pm SD$ )	
P0	33,00 + 1,095	a
P1	23,40 + 3,210	b
P2	21,75 + 3,201	b
P3	21,80 + 2,280	b
P4	21,00 + 5,196	b

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) berdasarkan uji BNT 5 %

Tabel 1 menunjukkan jumlah sel spermatogonia tiap perlakuan. Setelah dilakukan uji analisa statistik dengan <sup>2</sup>sidik ragam, terdapat perbedaan jumlah sel spermatogonia yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ) antar kelompok perlakuan. Kemudian memakai uji Beda Nyata Terkecil ( BNT ) 5%, menunjukkan bahwa kelompok mencit

kontrol (P0) mempunyai jumlah sel spermatogonia yang terbanyak dan berbeda nyata dengan kelompok perlakuan yang lain (P1,P2,P3,dan P4). Walaupun terdapat perbedaan angka, namun antara kelompok P1,P2,P3,dan P4 tidak berbeda nyata.

Tabel 2. Jumlah rata-rata sel spermatosit I pada tubulus mencit perlakuan

Perlakuan	Jumlah sel spermatosit I ( $\bar{x} \pm SD$ )	
P0	34,6 $\pm$ 2,608	a
P1	26,4 $\pm$ 1,517	b
P2	25,5 $\pm$ 1,732	bc
P3	21,8 $\pm$ 1,483	cd
P4	20,0 $\pm$ 2,828	d

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) berdasarkan uji BNT 5%

Dari tabel 2 diketahui jumlah rata - rata sel spermatosit primer tiap perlakuan. Setelah dilakukan analisa statistik menunjukkan adanya perbedaan jumlah sel spermatosit primer yang sangat nyata antar kelompok perlakuan ( $p < 0,01$ ). Setelah dilakukan uji BNT 5%, kelompok kontrol (P0) mengandung jumlah sel spermatosit primer terbanyak dan berbeda nyata dengan kelompok perlakuan lain (P1, P2, P3, dan P4). Jumlah sel

spermatozoid primer terkecil terdapat pada kelompok P4, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok P3. Bila kelompok P3 dibandingkan dengan kelompok P2, tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, demikian juga bila kelompok P2 dibanding kelompok P1.

Tabel 3. Jumlah rata-rata sel spermatozoa pada tubulus seminiferus mencit perlakuan

Perlakuan	Jumlah sel spermatozoa ( $\bar{x} \pm SD$ )	
P0	24,60 $\pm$ 0,894	a
P1	12,60 $\pm$ 1,817	b
P2	10,50 $\pm$ 2,646	b
P3	9,80 $\pm$ 1,924	b
P4	8,60 $\pm$ 2,881	b

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) berdasarkan uji BNT 5%

Jumlah rata-rata sel spermatozoa tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 3. Setelah dianalisa dengan sidik ragam, ternyata terdapat perbedaan jumlah sel spermatozoa yang sangat nyata antar kelompok perlakuan ( $p < 0,01$ ). Dari hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% menunjukkan jumlah spermatozoa terbanyak terdapat pada kelompok kontrol (P0) dan berbeda nyata dengan kelompok perlakuan lain

(P1, P2, P3, P4). Walaupun ada perbedaan angka, namun antara kelompok P1, P2, P3, dan P4 tidak berbeda nyata.

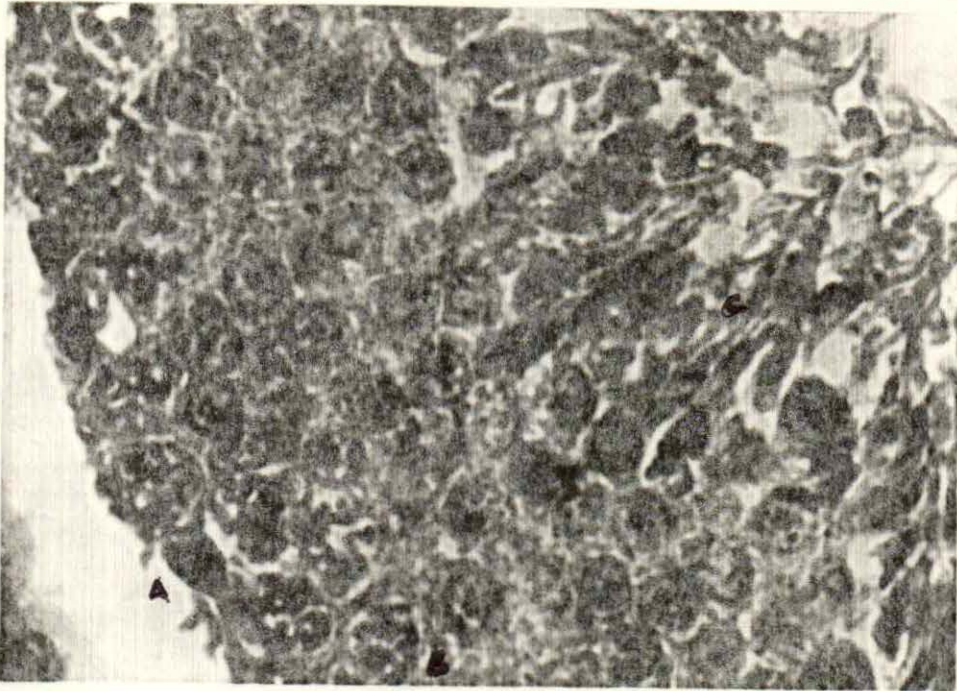
Gambaran histologi testis mencit kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 2, 3, 4, 5, 6, dan 7, sedangkan grafik jumlah rata-rata sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa dapat dilihat pada gambar 8.

Hasil penimbangan testis mencit dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata berat testis setelah perlakuan (mg)

Perlakuan	Berat testis ( $\bar{x} \pm SD$ )
P0	131,95 $\pm$ 25,700
P1	108,12 $\pm$ 29,941
P2	104,66 $\pm$ 24,453
P3	104,05 $\pm$ 18,597
P4	103,85 $\pm$ 21,830

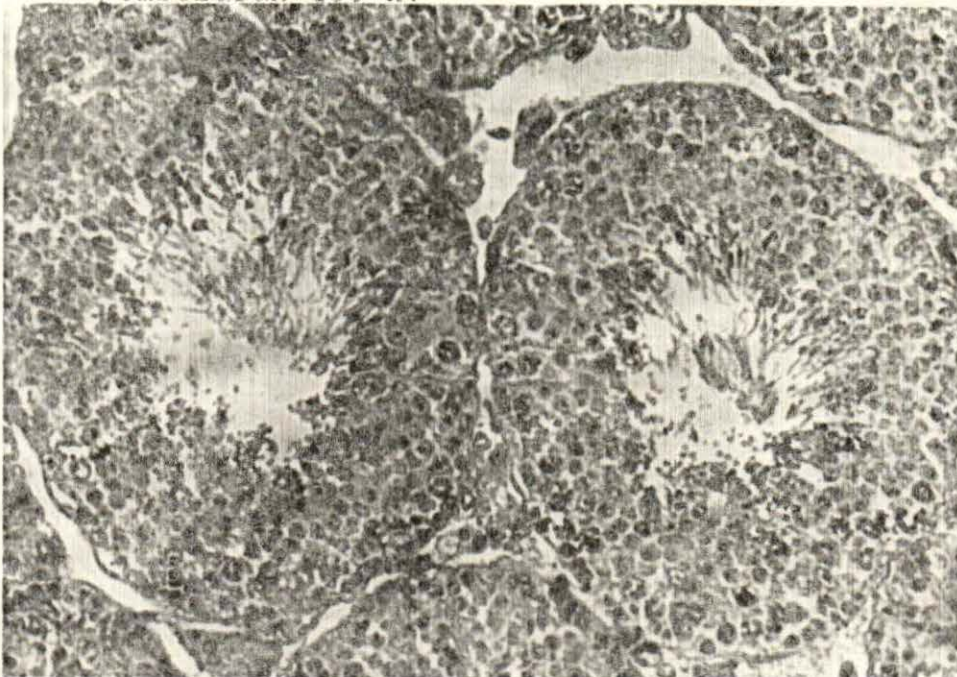
Setelah dilakukan analisa statistik dengan sidik ragam, walaupun berat testis secara numerik berbeda, namun perbedaan itu tidak nyata antar kelompok perlakuan (  $p > 0,05$  ).



Keterangan:

A.Spermatogonia, B.Spermatisit I, C.Spermatozoa

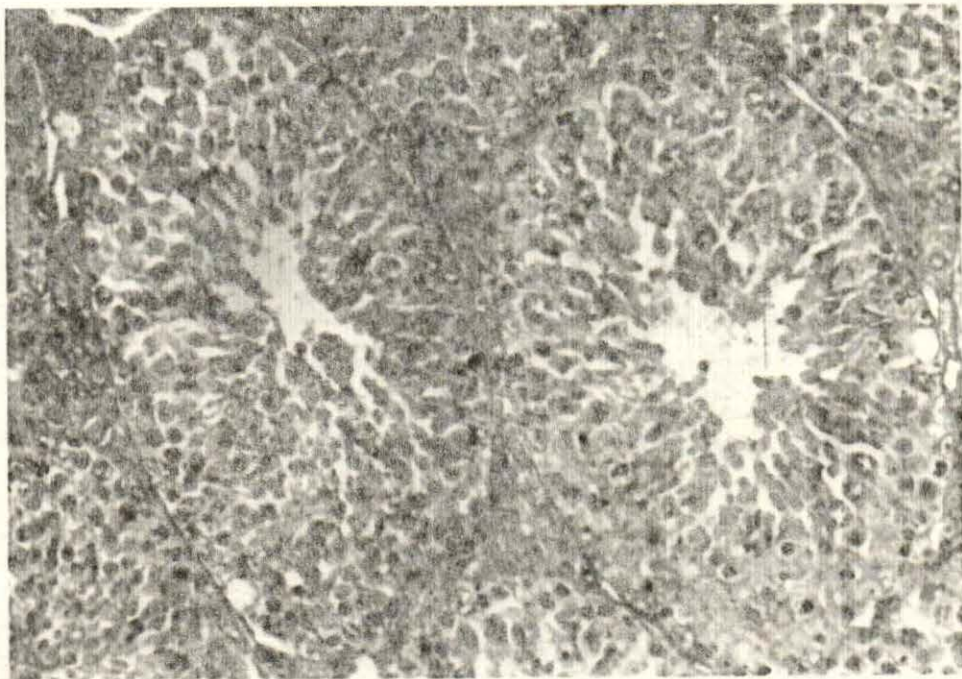
Gambar 2: Sel-sel Kelamin Jantan pada Irisan Melintang Testis Mencit , pewarnaan HE, pembesaran 450 x.



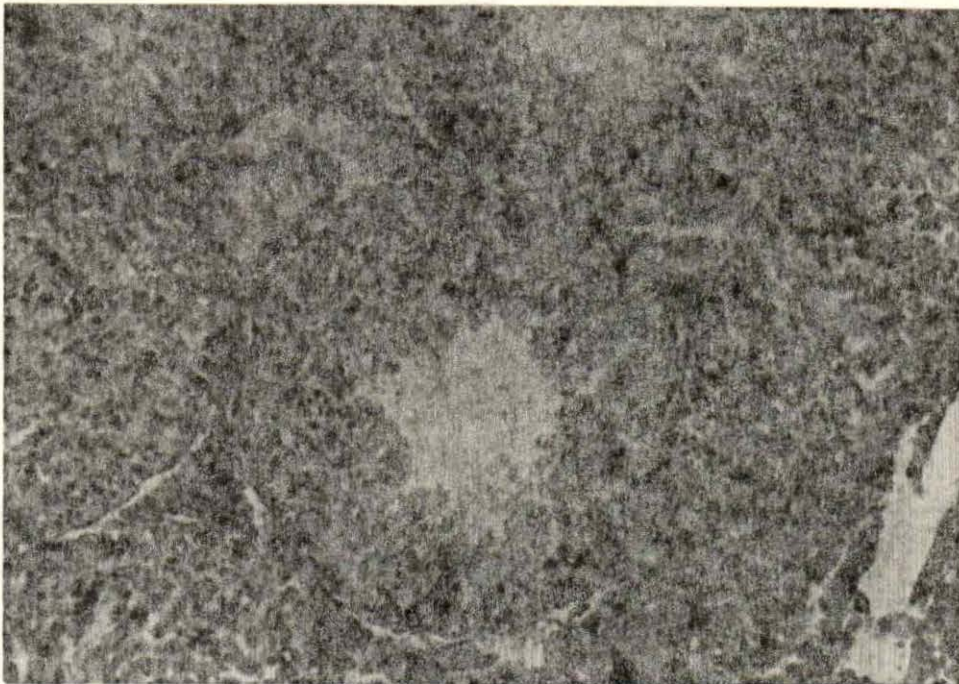
Gambar 3: Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok PO, pewarnaan HE, pembesaran 100 x



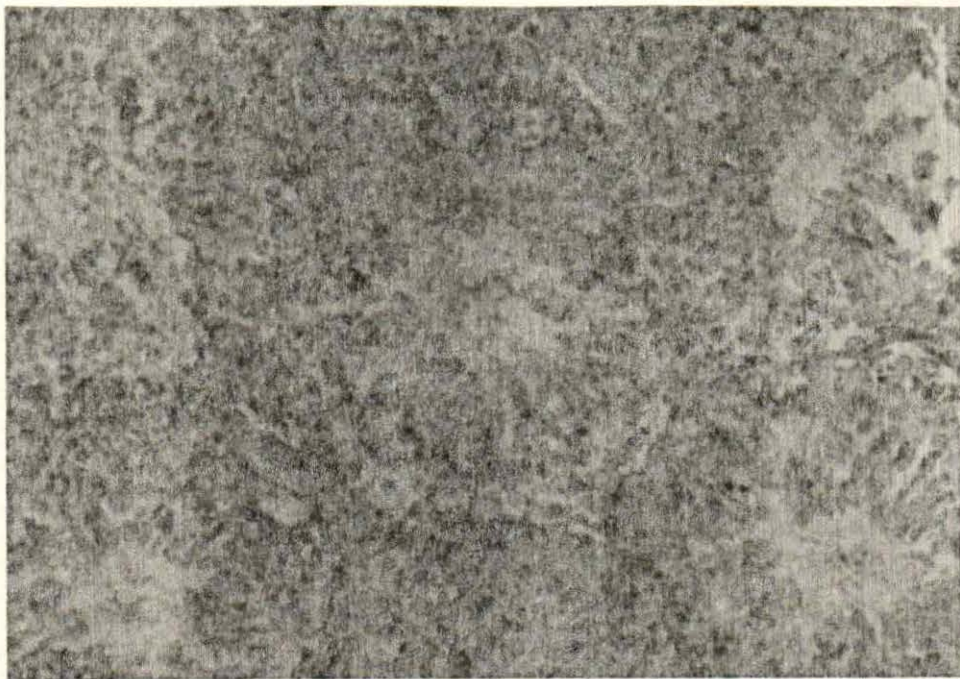
Gambar 4: Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis  
Mencit Kelompok P1, pewarnaan HE,  
pembesaran 100 x



Gambar 5: Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis  
Mencit Kelompok P2, pewarnaan HE,  
pembesaran 100 x.

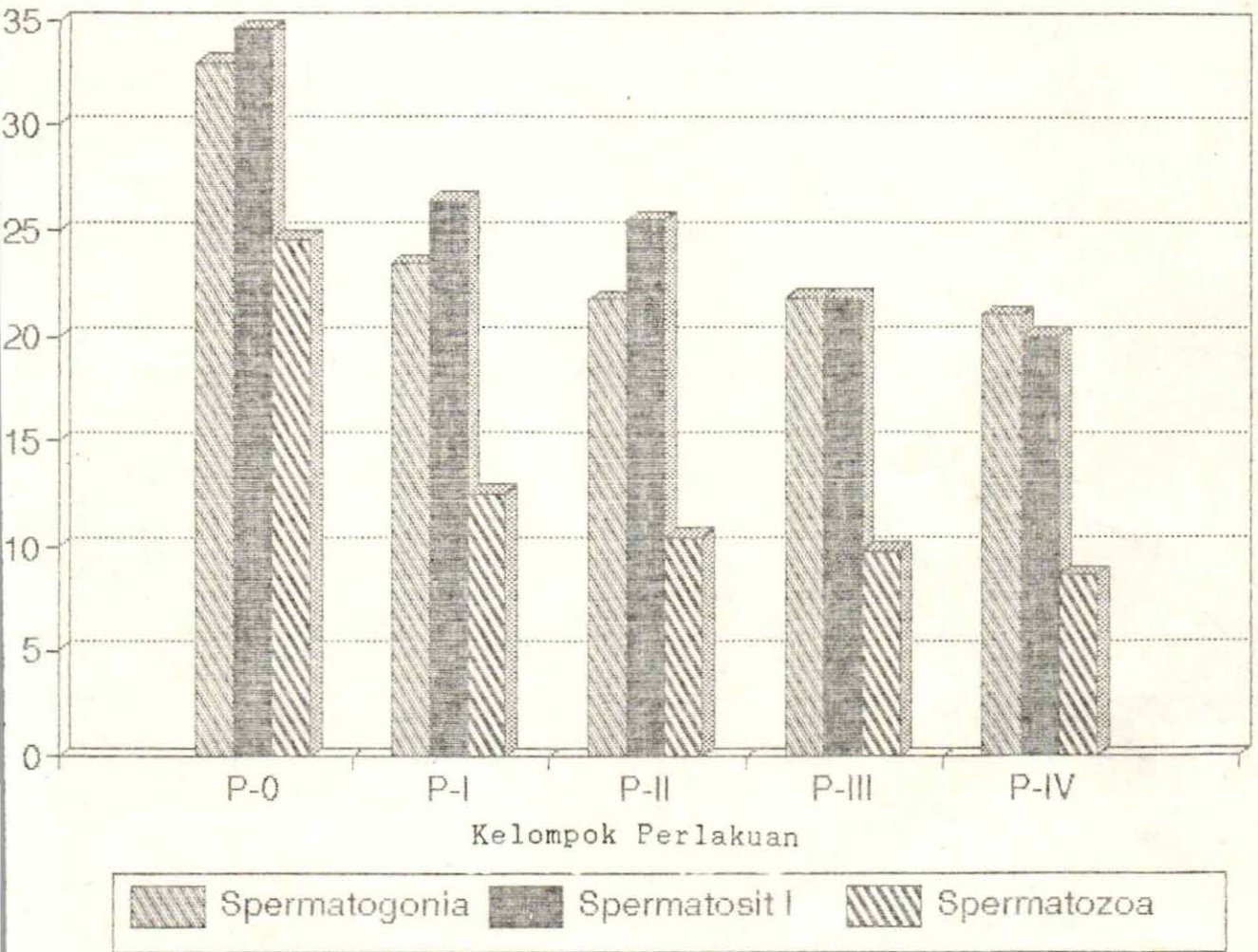


Gambar 6: Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok P3, pewarnaan HE, pembesaran 100 x.



Gambar 7: Irisan Melintang Tubulus Seminiferus Testis Mencit Kelompok P4, pewarnaan HE, pembesaran 100 x.





Gambar 8 : Grafik jumlah sel Spermogonia, Spermatozoa I, dan Spermatozoa pada tubulus seminiferus testis mencit kelompok perlakuan.

## BAB V

### PENBAHASAN

Pemberian ekstrak daun Api-api yang dilakukan dengan selang waktu yang berbeda ternyata mengakibatkan penurunan jumlah sel - sel kelamin pada testis mencit jantan yang sangat bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $p < 0,01$ ).

Jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa cenderung mengalami penurunan karena adanya hambatan perkembangan akibat pengaruh triterpena dan lupeol dari ekstrak daun Api-api yang diberikan.

Mekanisme kerja triterpena berpijak pada kemampuannya berinteraksi dengan sterol membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol dan membran sel. Sebagai akibatnya terjadi perubahan permeabilitas membran sel dan terjadi kelainan fungsi sel, pada saat pembelahan sel kelamin secara *meiosis* ( Anisimov et al., 1978 dan Korolkovas et al., 1979 ).

Menurut Gde ( 1989 ), triterpena yang terkandung dalam tumbuhan Api-api tersebut dapat menghambat proses pembelahan dan pematangan sel telur mencit betina. Mencit betina yang mendapat perlakuan ekstrak getah

tumbuhan Api-api mengalami penurunan jumlah fetus bahkan mengakibatkan sebagian besar mencit tidak bunting.

Mekanisme dan genesis pembentukan ovum analogi dengan mekanisme pembentukan spermatozoa ( Soehadi et al., 1983 ). Pada sel kelamin jantan, meiosis pertama terjadi pada saat spermatosit primer berubah menjadi spermatosit sekunder. Kemudian dilanjutkan pada meiosis yang kedua yaitu spermatosit sekunder menjadi spermatid. Pada saat peristiwa meiosis inilah triterpena bekerja, sehingga mengakibatkan penurunan jumlah sel-sel kelamin pada kelompok - kelompok perlakuan. Diduga pemberian ekstrak daun tumbuhan Apia-api dapat mengakibatkan turunnya kemampuan pejantan untuk membuahi sel telur. Pernyataan ini sesuai dengan hasil penelitian Soehadi dan Santa (1983) dan Setyabudi ( 1991 ).

Menurut Da Rocha et al. (1933) yang dikutip oleh Gde (1989), lupeol yang terkandung dalam tumbuhan Api-api, bekerja dengan cara menekan susunan saraf pusat mencit dan tikus. Lupeol mengakibatkan gangguan pada jalur hipotalamus yang selanjutnya menimbulkan gangguan pada sekresi *Gonadotropin Releasing Hormon* ( *GnRH* ). Gangguan sekresi *GnRH* mempengaruhi sekresi *Folicle Stimulating Hormon* ( *FSH* ) dan *Interstitial Cell*

*Stimulating Hormon ( ICSH )*. Sebagai akibatnya proses spermatogenesis tidak dapat berlangsung dengan baik ( Fransworth et al., 1975 ).

*FSH* merangsang pertumbuhan *tubulus seminiferus* yang berfungsi sebagai tempat untuk memulainya proses spermatogenesis ( Peter, 1985). *FSH* juga merangsang pertumbuhan *sel sertoli*, kemudian *sel sertoli* memberi nutrisi sel spermatozoa sampai sel spermatozoa melepaskan diri ke dalam lumen tubulus. *FSH* mempermudah pembentukan protein pengikat androgen yang terlibat dalam pengangkutan testosteron ke dalam tubulus seminiferus dan epididimis (Ganong, 1981). Mekanisme ini penting untuk mencapai kadar testosteron yang dibutuhkan untuk terjadinya spermatogenesis. Apabila terjadi gangguan sekresi *FSH* akibat adanya depresi susunan saraf pusat oleh luteol, maka kadar testosteron tidak tercapai dan akan mengganggu kelangsungan proses spermatogenesis. Sebagai akibatnya terjadi penurunan jumlah sel - sel kelamin.

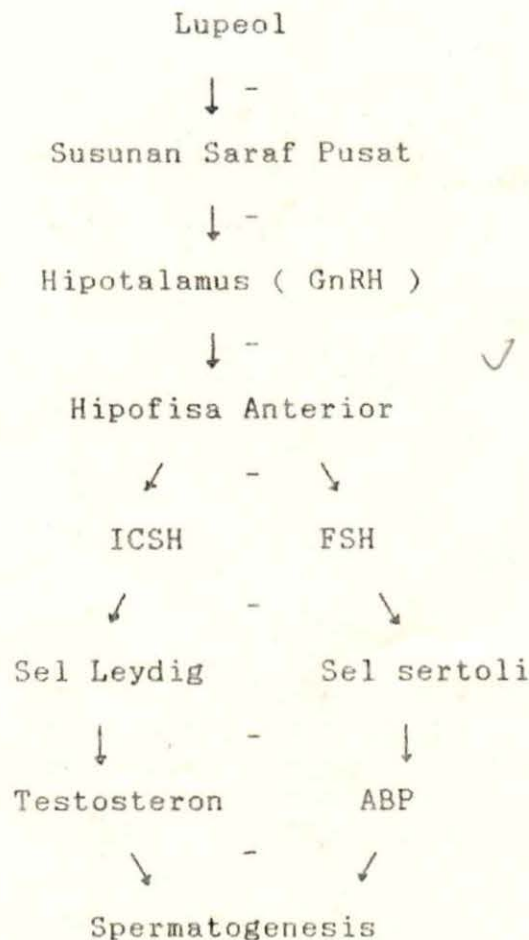
*ICSH* yang identik dengan *LH* berfungsi menstimulir pertumbuhan sel-sel *interstitial* terutama *sel leydig* untuk menghasilkan hormon *testosteron*. *ICSH* bersama - sama dengan *testosteron* ikut serta menstimulir pertumbuhan sel - sel germinatip. Gangguan

sekresi *ICSH* mengakibatkan penurunan jumlah dan fungsi sel *leydig* pada testis mencit, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Setyabudi ( 1991 ) yang memberikan ekstrak buah Api -api pada mencit jantan dewasa. Berkurangnya jumlah sel *leydig* diduga diikuti dengan berkurangnya produksi testosteron. Testosteron selain berfungsi menjaga integritas sel - sel kelamin jantan, juga berfungsi pada aktivitas mitosis dan meiosis. Bila jumlah testosteron berkurang, sebagai akibatnya jarak antar sel - sel kelamin semakin lebar yang diduga akan diikuti dengan terjadinya penurunan jumlah sel - sel kelamin, dan penurunan libido ( Setyabudi, 1991 ).

Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran jarak antar sel -sel kelamin, tetapi dilakukan perhitungan jumlah sel - sel kelamin. Dari hasilnya menunjukkan bahwa ada penurunan jumlah sel- sel kelamin yang sangat bermakna dengan kelompok kontrol. Hal ini diduga berkaitan dengan berkurangnya sekresi *ICSH* dan *FSH* dengan mekanisme seperti yang telah diuraikan.

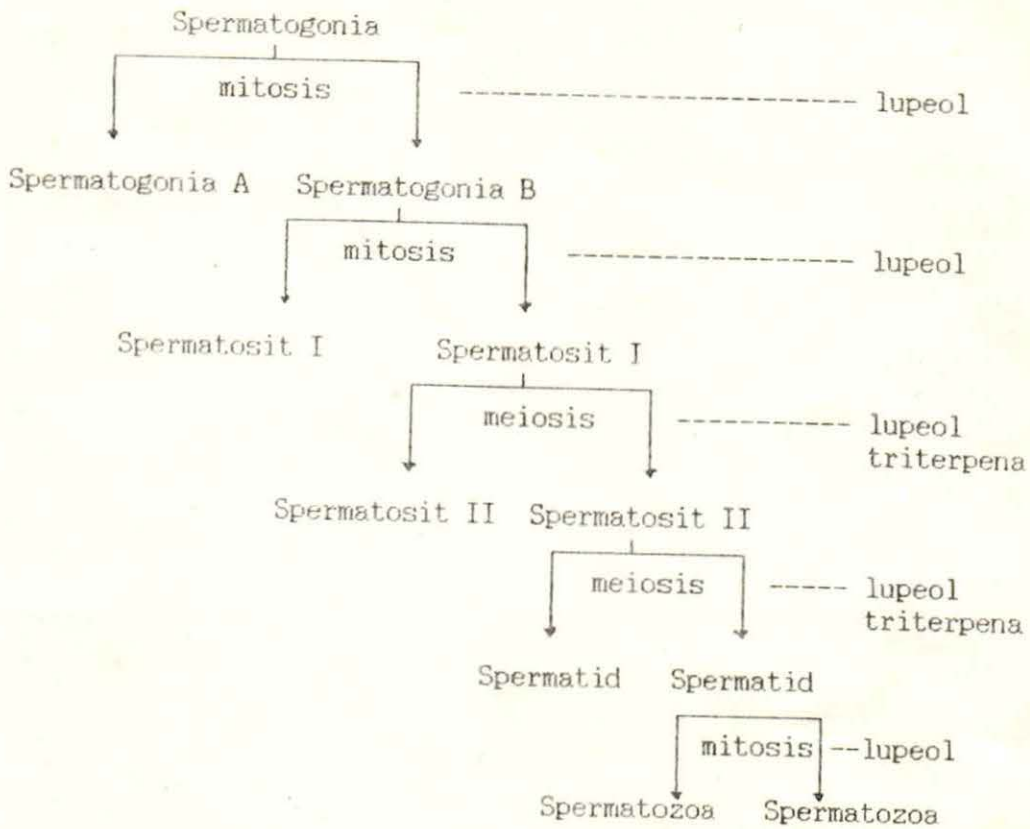
Jumlah sel spermatosit primer kelompok perlakuan (P1, P2, P3, dan P4) terdapat perbedaan, sedang jumlah sel spermatogonium dan sel spermatozoa tidak terdapat perbedaan secara analisa statistik. Hal ini diduga karena sifat spermatosit primer lebih peka daripada sel spermatogonium dan sel spermaatozoa terhadap perlakuan

dan bahan obat yang diberikan (Salisbury et al., 1985). Selain itu diduga pula bahwa pada proses perubahan sel spermatosit primer menjadi sel spermatosit sekunder bekerja dua kandungan aktif tumbuhan Api-api. Triterpena bekerja secara langsung pada sel kelamin jantan dan lupeol secara tidak langsung bekerja melalui susunan saraf pusat. Agar lebih jelas, dapat dilihat pada gambar 9 dan 10



Keterangan : - : mengalami gangguan

Gambar 9: Skema mekanisme kerja lupeol (Da Rocha, 1933)



Keterangan :

- Lupeol : bekerja secara tidak langsung melalui ssp (Da rocha et al., 1933).
- Triterpen : bekerja secara langsung pada sel kelamin (Anisimov et al., 1978).

Gambar 10 : Skema mekanisme triterpena dan lupeol

Pada penelitian ini, pemberian sembilan hari sekali sudah mampu menurunkan jumlah sel - sel kelamin jantan yang secara statistik tidak berbeda dengan pemberian obat setiap hari. Jika demikian pemberian sebaiknya dilakukan sembilan hari sekali, karena selain dapat mengurangi bahaya stres yang tidak diinginkan,

tidak merepotkan, dan dapat menghemat pemakaian bahan obat. Tetapi untuk mengetahui apakah pemberian obat sembilan hari sekali sudah mampu menimbulkan efek antifertilitas, perlu penelitian lebih lanjut. Jika belum mampu, dosis yang diberikan dapat ditingkatkan karena tumbuhan Api-api memiliki ED 50 sebesar 124,5 mg/kg berat badan dan LD 50 sebesar 5,01 g/kg berat badan (Soedarso, 1991).

Seperti yang telah diuraikan, fungsi testis ✓ dipengaruhi oleh hormon *FSH* dan *ICSH*. Bila sekresi *FSH* dan *ICSH* mengalami gangguan karena pemberian ekstrak daun tumbuhan Api-api, maka fungsi testis akan terganggu, sebagai akibatnya akan menurunkan berat testis.

Untuk meneguhkan hasil penelitian ini, maka diukur juga berat testis masing - masing perlakuan setelah penelitian berakhir. Dalam penelitian ini penurunan berat testis memang terjadi, tetapi penurunan itu tidak nyata ( $p > 0,05$ ). Menarik untuk disimak, memang besarnya testis tidak saja dipengaruhi oleh jumlah sel-sel kelaminnya. Banyak jaringan yang mendukung pertumbuhan, besar, dan berat testis, di antaranya jaringan parenkim yang menduduki sebagian besar testis, volume darah, dan berkorelasi dengan berat badan hewan itu sendiri. Berat testis dalam penelitian ini juga



tidak jauh berbeda dengan berat testis mencit pada umumnya, yaitu berkisar antara 80 - 100 mg. Hal ini disebabkan karena pemberian ekstrak daun Api-api diberikan dalam waktu yang tidak lama. Menurut Labrie et al. (1978) yang dikutip oleh Tjondronegoro (1992) pengecilan testis dapat terjadi bila hambatan fungsi hipotalamus dilakukan dalam waktu yang lama. Jadi mungkin bila pemberian ekstrak daun Api-api diberikan dalam waktu lama, akan semakin nyata penurunan berat testisnya. Tetapi hal ini tidak perlu dilakukan karena tujuan utama penelitian ini adalah menghambat perkembangan sel-sel kelamin.

---

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Dari Penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak daun tumbuhan Api-api dosis 0,3 g/kg berat badan dengan selang waktu sembilan hari sekali, enam hari sekali, tiga hari sekali, dan setiap hari terhadap gambaran histologi testis mencit dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Terjadi penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa tiap kelompok perlakuan pemberian obat.
2. Pemberian sembilan hari sekali sudah mampu menurunkan jumlah sel-sel kelamin jantan.

#### 6.2. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut mengenai hal-hal yang berhubungan dengan pemberian ekstrak daun tumbuhan Api-api dengan selang waktu tertentu, terhadap:

1. Efek antifertilitas dapat terjadi pada perlakuan berapa hari sekali dengan dosis 0,3 g/kg berat badan.
2. Dosis yang efektif sebagai antifertilitas bila pemberiannya dilakukan sembilan hari sekali.

3. Pengaruh pemberian ekstrak daun tumbuhan Api-  
api dengan selang waktu tersebut terhadap kadar  
hormon - hormon reproduksi mencit jantan.
4. Pengaruhn pemberian ekstrak daun tumbuhan Api-  
api dengan selang waktu tersebut terhadap  
antifertilitas ternak atau hewan lain.

## RINGKASAN

Perbaikan kualitas ternak dapat dicapai melalui seleksi pada bibit ternak jantan kemudian dilakukan kastrasi. Teknik seleksi selain menentukan ternak - ternak pilihan yang dikehendaki juga bermanfaat sebagai isolasi ternak yang tidak unggul agar tidak lagi digunakan dalam program breeding. Untuk mencapai tujuan tersebut dapat digunakan ekstrak daun tumbuhan Api-api sebagai bahan obat kastrasi<sup>??</sup>, yang relatif murah dan aman.

Terkandung zat antifertilitas triterpena dan lupeol di dalam tumbuhan Api-api baik akar, batang, daun dan buahnya. Mekanisme kerja triterpena berpijak pada kemampuannya berinteraksi dengan sterol membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol yang terdapat pada membran sel. Akibatnya dapat menghambat laju pertumbuhan sel kelamin pada tahap pembelahan meiosis. Sedang lupeol bekerja melalui susunan sarap pusat, yang berpengaruh menghambat produksi dan sekresi hormon - hormon reproduksi yang pada akhirnya akan menghambat proses spermatogenesis. ✓

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu terhadap gambaran histologi testis mencit.

Dalam penelitian ini digunakan 25 ekor mencit jantan berumur 10 minggu dan berat badan 25 - 30 gram. Mencit dibagi secara acak menjadi lima kelompok perlakuan. Kelompok P0 tanpa perlakuan sebagai kontrol, sedang kelompok P1, P2, P3, dan P4 masing-masing diberikan ekstrak daun Api-api dengan selang waktu sembilan hari, enam hari, tiga hari, dan satu hari. Besarnya dosis pemberian ekstrak daun Api-api 0,3 g/kg berat badan. Dan setelah 36 hari perlakuan, setiap mencit diambil testisnya untuk dibuat preparat histologi. Pengamatan sediaan histologi dilakukan untuk menghitung jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa masing-masing pada enam tubulus seminiferus dari tiga irisan testis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun Api-api dengan selang waktu tertentu menyebabkan penurunan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, dan sel spermatozoa. Pada pemberian sembilan hari sekali dinilai sudah mampu menurunkan jumlah sel - sel kelamin tersebut. Tetapi untuk mengetahui apakah pemberian sembilan hari sekali sudah mampu menimbulkan efek antifertilitas, perlu penelitian lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

Anisimov, M.M.; Senthsova, E.B.; Scheglov, E.V.V; Strignina, L.I.; Shumilov, Yu.N.; Chetyrina, N.S.; Elyukov, G.B. 1978. Mechanism of Cytotoxic Action of some Triterpena Glikoside. Pregamon Press. Vol. 16:207-218.

Budiyatno, S. dan Zailani, J. 1977. Seleksi dan Kastrasi Sapi Potong. Dirjen. Peternakan Jakarta.

✓ Craigmyle, M.B.L. 1987. A colour atlas of Hystology. Anatomy and Histology. Texas A and University Medical School. College Station. Texas. USA.

Das, Manik, C. and Mahalo Shasi B. 1983. Triterpenoid , Phytochemistry. Vol.22: 1071-1095.

Dhami, P.S. and Dhami, D.K. 1982. Chordata Zoology. Richard and Co. Publisher. New Delhi.

Farnsworth, Norman R., Bingel Audrey, and Fong Harry H.S. 1975. Potential Value of Plant as Sources of New Antifertility Agents II. J. Pharm Sei.

Ganong, W.F. 1981. Fisiology Kedokteran. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Edisi 10:373-379.

Gde, Nyoman Astika. 1989. Isolasi dan Identifikasi Kandungan Aktif Kulit Batang Avicennia marina (Forsk) Vierh Yang Berkhasiat Pada Mus musculus Betina. Disertasi. Universitas Airlangga.

Harborne, J.B. 1973. Phytochemistry Methodes. London: Chapman and Hall.

Hardijanto; Sardjito, T.; Hernawati, T.; Susilowati, T; Harjopranoto, S. 1989. Pengaruh Pemberian Formalin terhadap Kualitas dan Kuantitas Air Mani Kambing Kacangan Jantan. Universitas Airlangga.

Hardijanto dan Harjopranjoto, S. 1994. Inseminasi Buatan Jurusan Veteriner. Fakultas Pertanian. Universitas Wijaya Kusuma.

Heyne, K. 1988. Tanaman Berguna Indonesia. Vol. III. Badan Badan Litbang Departemen Kehutanan Jakarta.

Johnson H.M. and B.J. Everitt. 1988. Essential Reproduction. 3th. ED. Blackwell Scientific Publication. Oxford. London. Edinburgh. Boston. Palo Alto. Melbourne. pp:50-62.

- Kimball, J.W. 1988. Biologi. Edisi 5. Terjemahan Siti Soetarmi dan Nawangsari. Penerbit Erlangga. Jakarta. 630-635.
- Korolkovas, Takao, Fukushima, and Sawada Tokurosuke. 1981. Structure of Prosopogenin Obtained from Saponin of *Gleditsia japonica*. *Phytochemistry*.
- Kusriningrum. 1989. Rancangan dan Percobaan. Fakultas Kedokteran Hewan universitas Airlangga. Surabaya.
- Partodihardjo, S. 1982. Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara Jakarta.
- Perry; Lily, M.; and Judith Metzger. 1980. Medicinal Plants of East and South East Asia and Uses. London. The MIT Press.
- Peter, A. Mayer; Daryck, Granner; Victor, W. Rodwell; D.W. Martin, J.R. 1985. Biokimia Harper Edisi 10. EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Purnomo, B. 1990. Ilmu Mudigah. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Salisbury, G.W. and Denmark, N.L. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Terjemahan Djanuar, R. Fakultas Peternakan. Universitas Jenderal Sudirman. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Santos, Alfredo C.; Guevara Beatrice, Q.; Mascroda Alicia, M.; and Estrada Conception, Q. 1978. Phytochemical Microbiological and Pharmacological Screening of Medicinal Plants. Manila: Research Center of University of Santo Thomas.
- Sastrowardoyo, W. 1991. Prospek Getah Daun Api-Api (*Avicennia officinalis* L) sebagai Kontrasepsi Wanita. Simposium Api-Api sebagai Obat Tradisional. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Setyabudi, G. 1991. Pengaruh Ekstrak Buah *Avicennia marina* (Forsk) vierh pada Spermatogenesis serta Gambaran Histologis Hati dan Ginjal Mencit dalam Upaya Pencarian Obat Kontrasepsi Pria. Tesis. Universitas Airlangga.

- Soedarso. 1991. Prospek Pemanfaatan Getah Kayu Api-Api ( *Avicennia officinalis* L ) sebagai Bahan Kontrasepsi Tradisional Indonesia. Simposium Api-Api sebagai Obat Tradisional. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Airlangga.
- Soehadi, K. and Santa IG.P. 1989. Perspective of Male Contraception with Regards to Indonesian Traditional Drugs. Proceeding of The International Symposium The Management of Infertility and Fertility Control in The Male.
- Soepardi, R. 1965. Apotik Hijau. Cetakan II. Surakarta. PT. Purnawarman.
- Sri Margono. 1970. Mangrove sebagai Baku Pulp dari Kertas. Sifat-sifat Fisika Kimia dan Dimensi Serangga. Vol. 8.
- Steenis, C.G.G.J. 1992. Flora untuk Sekolah Indonesia. PT Padya Paramita. Cetakan 6. Hal 347.
- Suparto, H. ; Sastrowardoyo, W. 1991. Penggunaan Getah Api-Api di Laboratorium Penelitian dan Perkembangan Pelayanan Pengobatan Obat Tradisional. Simposium Api-Api sebagai Obat Tradisional. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga.
- Tedja, H. 1993. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Manggis Terhadap Berat dan Gambaran Histologi Testis Mencit. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tjondronegoro, S. 1992. Role of Gonadotropins in The Control of Reproduction Function in The Rams. University of Western. Amsterdam.



**LAMP I R A N**

Lampiran 1. Evaluasi Statistik Jumlah Spermatogonia pada Tubulus Seminiferus

Ulangan	Jumlah sel spermatogonia				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	33	23	23	22	22
2	31	22	24	23	22
3	33	22	17	18	25
4	34	29	23	24	24
5	34	21	-	22	12
$\Sigma x$	165	117	87	109	105
$\bar{x}$	33	23,4	21,75	21,8	21
SD	1,095	3,210	3,201	2,280	5,196

$$FK = \frac{y_{..}^2}{\Sigma n_i} = \frac{(583)^2}{24} = 14162,04167$$

$$JKT = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - FK$$

$$= (32)^2 + (31)^2 + \dots + (12)^2 - FK$$

$$= 14863 - FK = 700,958$$

$$JKP = \sum_{i=1}^t \frac{y_{i.}^2}{n} - FK$$

$$= \frac{(165)^2 + (117)^2 + (109)^2 + (105)^2}{5} + \frac{(87)^2}{4} - FK$$

$$= 12764 + 1892,25 - FK = 494,208$$

Lanjutan lampiran 1

$$\begin{aligned} \text{JKS} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 700,958 - 494,208 = 206,750 \end{aligned}$$

Sidik Ragam

S.K.	d.b.	J.K.	K.T.	F hit	F tab	
					0,05	0,01
Perlak	4	494,208	123,552	11,554 **	2,9	4,5
Sisa	19	206,750	10,882			
Total	23	700,958				

$$H_0 = P_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4$$

$$H_1 \neq P_0 \neq P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4$$

F hit > Ftab 0,01 maka  $H_0$  = ditolak

$H_1$  = diterima

Dari hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Api-api dengan selang waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan jumlah sel spermatogonia yang sangat nyata antara kelompok perlakuan ( $p > 0,01$ ).

Uji Beda Nyata Terkecil

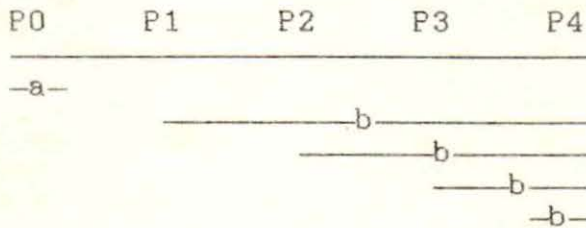
$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t(5\%) (\text{d.b.sisa}) \times \sqrt{\text{KTS} \left( \frac{n}{A} + \frac{n}{B} \right)} \\ &= 2,093 \times \sqrt{10,8815 \left( \frac{4}{5} + \frac{1}{4} \right)} \\ &= 7,075 \end{aligned}$$

Lanjutan lampiran 1

Beda Rata - rata Perlakuan Untuk Uji BNT

Perlak	Rata <sup>a</sup> Perlak	Beda Selisih				BNT 5%
		$\bar{x}-P_4$	$\bar{x}-P_2$	$\bar{x}-P_3$	$\bar{x}-P_1$	
P0	33	12 *	11,25 *	11,2 *	9,6 *	7,075
P1	23,4	2,4	1,65	1,6		
P3	21,8	0,8	0,05			
P2	21,75	0,75				
P4	21					

Notasi



Dari hasil uji BNT 5% dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol mempunyai jumlah sel spermatogonia yang terbanyak dan berbeda nyata dengan kelompok lainnya. Sedang antara kelompok P1, P2, P3, dan P4 tidak berbeda nyata, walaupun secara numerik kelompok IV jumlah sel spermatogonianya paling sedikit.

Lampiran 2. Evaluasi Statistik Jumlah Sel Spermatisit I pada Tubulus Seminiferus Testis Mencit

Ulangan	Jumlah sel spermatogonia				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	36	28	27	24	24
2	34	25	26	20	20
3	31	25	23	22	20
4	34	28	26	22	20
5	38	26	-	21	16
$\Sigma x$	173	132	102	109	100
$\bar{x}$	34,6	26,4	25,5	21,8	20
SD	2,608	1,517	1,732	1,483	2,828

$$FK = \frac{y_{..}^2}{\Sigma n.i} = \frac{(616)^2}{24} = 15810,667$$

$$JKT = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - FK$$

$$= (36)^2 + (34)^2 + \dots + (20)^2 - FK$$

$$= 16534 - FK = 723,333$$

$$JKP = \sum_{i=1}^t \frac{y_{i.}^2}{n} - FK$$

$$= \frac{(173)^2 + (132)^2 + (109)^2 + (100)^2}{5} + \frac{(102)^2}{4} - FK$$

$$= 13846,8 + 2601 - FK = 637,133$$

Lanjutan lampiran 2

$$JKS = JKT - JKP$$

$$= 723,333 - 637,133 = 86,20$$

Sidik Ragam

S.K.	d.b.	J.K.	K.T.	F hit	F tab	
					0,05	0,01
Perlak	4	637,133	159,283	35,108 **	2,9	4,5
Sisa	19	86,20	4,537			
Total	23	723,333				

$$H_0 = P_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4$$

$$H_1 \neq P_0 \neq P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4$$

F hit > Ftab 0,01 maka  $H_0$  = ditolak

$H_1$  = diterima

Dari hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Api-api dengan selang waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan jumlah sel spermatisit I yang sangat nyata antara kelompok perlakuan ( $p > 0,01$ ).

Uji Beda Nyata Terkecil

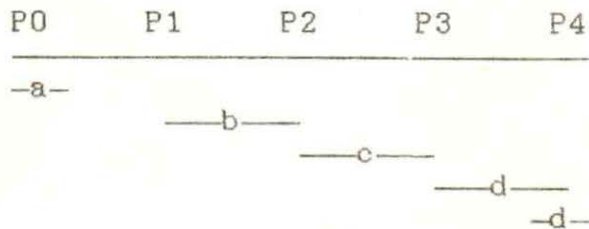
$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t(5\%) (\text{d.b.sisa}) \times \sqrt{\text{KTS} \left( \frac{n}{A} + \frac{n}{B} \right)} \\
 &= 2,093 \times \sqrt{4,537 \left( \frac{4}{5} + \frac{1}{4} \right)} \\
 &= 4,568
 \end{aligned}$$

Lanjutan lampiran 2

Beda Rata - rata Perlakuan Untuk Uji BNT

Perlak	Rata <sup>2</sup> Perlak	Beda Selisih				BNT 5%
		$\bar{x}$ -P4	$\bar{x}$ -P3	$\bar{x}$ -P2	$\bar{x}$ -P1	
P0	34,6	14,6*	12,8 *	9,1 *	8,2 *	4,568
P1	26,4	6,4	4,6	0,9		
P2	25,5	5,5	3,7			
P3	21,85	1,8				
P4	20					

Notasi



Dari hasil uji BNT 5% dapat disimpulkan bahwa kelompok kontrol mempunyai jumlah sel spermatis I yang terbanyak dan berbedanya nyata dengan kelompok lainnya. Jumlah sel spermatis I paling sedikit terdapat pada kelompok P4 tetapi tidak berbedanya nyata dengan kelompok P3.

Lampiran 3. Evaluasi Statistik Jumlah Spermatozoa pada Tubulus Seminiferus

Ulangan	Jumlah sel spermatogonia				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	25	14	10	9	11
2	24	15	12	9	9
3	26	11	13	8	8
4	24	11	7	10	11
5	24	12	-	13	4
$\Sigma x$	123	63	42	49	43
$\bar{x}$	24,6	12,6	10,55	9,8	8,6
SD	0,894	1,817	2,646	1,924	2,881

$$FK = \frac{y_{..}^2}{\Sigma n_i} = \frac{(320)^2}{24} = 4266,667$$

$$JKT = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - FK$$

$$= (25)^2 + (24)^2 + \dots + (4)^2 - FK$$

$$= 51953 - FK = 929,333$$

$$JKP = \sum_{i=1}^t \frac{y_{i.}^2}{n} - FK$$

$$= \frac{(123)^2 + (63)^2 + (49)^2 + (43)^2}{5} + \frac{(42)^2}{4} - FK$$

$$= 4669,6 + 441 - FK = 843,93$$



Lanjutan lampiran 3

$$JKS = JKT - JKP$$

$$= 929,333 - 843,933 = 206,750$$

Sidik Ragam

S.K.	d.b.	J.K.	K.T.	F hit	F tab	
					0,05	0,01
Perlak	4	494,208	123,552	11,554 **	2,9	4,5
Sisa	19	206,750	10,882			
Total	23	700,958				

$$H_0 = P_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4$$

$$H_1 \neq P_0 \neq P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4$$

F hit > Ftab 0,01 maka  $H_0$  = ditolak

$H_1$  = diterima

Dari hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Api-api dengan selang waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan jumlah sel spermatozoa yang sangat nyata antara kelompok perlakuan ( $p > 0,01$ ).

Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t(5\%) (\text{d.b.sisa}) \times \sqrt{\text{KTS} \left( \frac{n}{A} + \frac{n}{B} \right)} \\ &= 2,093 \times \sqrt{4,495 \left( \frac{4}{5} + \frac{1}{4} \right)} \\ &= 4,57 \end{aligned}$$



Lampiran 4. Evaluasi Statistik Berat Testis Mencit  
Kelompok Perlakuan (mg)

Ulangan	Berat Testis (mg)				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	135	93,7	122,75	101,15	142,46
2	106,9	97,85	119,7	107,3	98,65
3	113,5	89,15	106,7	83,3	92,35
4	172,75	161,25	69,5	133,3	95,74
5	131,6	98,65	-	95,2	90,5
$\Sigma x$	659,75	540,6	418,65	520,25	519,25
$\bar{x}$	131,95	108,12	104,66	104,05	103,85
SD	25,700	29,941	24,453	18,597	21,830

$$FK = \frac{y..^2}{\Sigma n.i} = \frac{(2658,5)^2}{24} = 294484,26$$

$$JKT = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - FK$$

$$= (135)^2 + (106,9)^2 + \dots + (90,05)^2 - FK$$

$$= 308687,97 - FK = 14203,71$$

$$JKP = \sum_{i=1}^t \frac{y_{i.}^2}{n} - FK$$

$$= \frac{(659,75)^2 + (540,6)^2 + (520,25)^2 + (519,25)^2}{5} + \frac{(87)^2}{4} - FK$$

$$= 253559,8095 + 43816,956 - FK = 2892,505$$

Lanjutan lampiran 4

$$JKS = JKT - JKP$$

$$= 14203,71 - 2892,505 = 11311,205$$

Sidik Ragam

S.K.	d.b.	J.K.	K.T.	F hit	F tab	
					0,05	0,01
Perlak	4	2892,505	723,126	1,215	2,8	4,5
Sisa	19	11311,205	595,327			
Total	23	14203,71				

$$H_0 = P_0 = P_1 = P_2 = P_3 = P_4$$

$$H_1 \neq P_0 \neq P_1 \neq P_2 \neq P_3 \neq P_4$$

$F_{hit} < F_{tab} 0,05$  maka  $H_0 =$  diterima

$H_1 =$  ditolak

Dari analisa dengan sidik ragam dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat testis antar kelompok perlakuan.

### Lampiran 5: Pembuatan Ekstrak Daun Api-Api

Daun tumbuhan Api-api yang dipakai pada penelitian ini diambil dari pantai Ria Kenjeran Surabaya. Setelah dilakukan identifikasi, tumbuhan Api-api ini termasuk spesies *Avicennia marina*. Pengambilan daun dilakukan pada pangkal hingga bagian tengah batang, yaitu daun-daun yang sudah tua.

Daun tumbuhan api-api terlebih dahulu diopen pengering, kemudian digiling dengan alat penggiling buatan Arthur H. Thomas dan diayak dengan ayakan nomor 20 sehingga didapat serbuk halus. Serbuk daun api-api sebanyak 1 kg dibasahi dengan cairan penyari (methanol) kurang lebih 600 ml. Aduk dan ratakan pembasahan hingga seluruh bagian serbuk daun api-api benar-benar terbasahi. Serbuk daun tersebut dipindahkan ke dalam perkolator sedikit demi sedikit, hingga semuanya masuk. Kemudian tuangkan cairan penyari secukupnya hingga bahan terendam dan biarkan selama 24 jam. Dilakukan penampungan perkolat dengan kecepatan konstan. Tambahkan pelarut bila bagian atas bahan dalam perkolator sudah mulai tidak terendam methanol lagi. Penampungan perkolat dihentikan bila telah didapatkan sampai 80 % dari jumlah pelarut. Sisa di dalam perkolator diperas dengan kain flanel dan tambahkan pada penampungan pertama. Hitung jumlah perkolat yang didapat dan disimpan dalam wadah tertutup selama dua

hari di tempat yang sejuk. Pemekatan dilakukan dengan alat pemekat dengan tekanan rendah dan suhu  $\leq 50^{\circ}$  C. Kemudian dilakukan pengeringan dengan water bath sampai didapatkan ekstrak kering daun api-api. Selanjutnya dilakukan pembuatan suspensi ekstrak dengan aquades steril (anonimus,1972).

## Lampiran 6 : Pembuatan Sediaan Histologi Testis

Pembuatan sediaan histologi ini dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dengan cara sebagai berikut :

### Fiksasi dan Pencucian

Tujuan : - Mencegah terjadinya degenerasi jaringan pasca mati.  
- Meningkatkan afinitas jaringan terhadap bermacam - macam zat warna.  
- Memudahkan memotong jaringan karena jaringan menjadi lebih keras.

Reagen : Formalin 10 %.

Cara kerja : Setelah diseksi, kedua testis tersebut dimasukkan ke dalam formalin 10 % selama 24 jam, kemudian dicuci dengan air kran yang mengalir selama setengah jam.

### Dehidrasi dan clearing

Tujuan : Untuk menarik air dari jaringan, membersihkan dan menjernihkan jaringan.

Reagen : Alkohol 70 %, 80 %, 95 %, absolut I, II, III dan xylol I dan II.

Cara kerja : Testis dimasukkan dalam reagen dengan urutan: alkohol 70 %, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, III, dan xylol I dan II, masing-masing selama 3 menit.

### Infiltrasi

- Tujuan : Menginfiltrasi jaringan.
- Reagen : Parafin I dan II
- Cara kerja : Jaringan dimasukkan dalam parafin I yang mencair, kemudian dioven setengah jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam parafin II dan dimasukkan lagi ke dalam oven selama setengah jam pada suhu  $58^{\circ}$  -  $60^{\circ}$  C

### Pembuatan balok parafin

- Tujuan : Memudahkan pemotongan jaringan.
- Reagen : Parafin cair.
- Cara kerja : Menyediakan cetakan besi yang sebelumnya diolesi gliserin dengan maksud untuk mencegah melekatnya parafin pada cetakan. Setelah parafin dituangkan pada cetakan, testis dimasukkan dengan pinset dan ditunggu sampai parafin membeku.

### Pengirisan tipis

- Tujuan : Memotong jaringan sehingga mudah dilihat di bawah mikroskop.
- Alat : Mikrotom
- Cara kerja : Pemotongan diambil random, tiap sepuluh kali pemotongan diambil satu dengan tebal lima sampai tujuh mikron, kemudian dicelupkan ke dalam air hangat dengan suhu  $20^{\circ}$  -  $30^{\circ}$  C sampai jaringan



berkembang dengan baik dan mekar, kemudian diletakkan pada gelas obyek yang telah diolesi dengan putih telur, selanjutnya dikeringkan di atas hot plate.

### Pewarnaan

Tujuan : Memudahkan melihat perubahan yang terjadi pada jaringan. Dalam hal ini digunakan satu macam pewarnaan yaitu HE. Dengan pewarnaan ini dapat dilihat dengan jelas bentuk masing-masing sel, sitoplasmanya merah, sedangkan intinya biru.

Cara kerja : Pewarnaan HE dengan metode Harris dengan

cara sebagai berikut : jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam xylol I selama 3 menit dalam tempat khusus dan satu menit pada xylol II, kemudian pada alkohol absolut I, II, alkohol 96 %, 95%, 80 %, 70 %, dan air kran selama satu menit. Selanjutnya jaringan atau organ dimasukkan ke dalam zat warna hematoxylin selama lima menit, air kran selama dua sampai lima menit, asam alkohol tiga sampai sepuluh celupan, air kran 10 menit, aquades secukupnya, Zat warna

selama empat menit, dimasukkan lagi ke dalam aquades secukupnya. Selanjutnya dimasukkan dalam alkohol 70 %, 80 % masing-masing setengah menit, alkohol 96 %, alkohol absolut I dan II satu menit, kemudian xylol I dan II masing selama satu sampai dua menit dan selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

#### Mounting

Menutup sediaan dengan gelas penutu, yang sebelumnya ditetesi dengan canada balsem.